

[Aus der serologischen Abteilung (Dr. Emmerich) des Heidelberger
Pathologischen Instituts (Direktor: Professor Dr. Ernst).]

Untersuchungen mit Hühnereigelb-Antiserum.



Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen medizinischen Fakultät
der
Ruprecht-Karls-Universität zu Heidelberg

vorgelegt von
Herbert Seng
aus Heidelberg.

Jena
Gustav Fischer
1913.

[Aus der serologischen Abteilung (Dr. Emmerich) des Heidelberger
Pathologischen Instituts (Direktor: Professor Dr. Ernst).]

Untersuchungen mit Hühnereigelb-Antiserum.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen medizinischen Fakultät
der
Ruprecht-Karls-Universität zu Heidelberg

vorgelegt von

Herbert Seng
aus Heidelberg.

Jena
Gustav Fischer
1913.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der
Universität Heidelberg.

Dekan:
Professor Dr. Wilms.

Referent:
Professor Dr. Ernst.

Abdruck aus der
Zeitschrift für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie.
I. Teil. Originale. Bd. XX.

Kurz nach Bekanntwerden der Präzipitationsmethoden machten Uhlenhuth und Ottolenghi darauf aufmerksam, daß es gelingt, mittels der Methode das Eigelb des Hühnereis von dem anderer Vogeleier zu unterscheiden, und in der Folgezeit erschienen noch mehrere Arbeiten, welche auf die praktische Verwendbarkeit der Methode zur Untersuchung von Nahrungsmitteln hinwiesen und sich mit dem biologischen Verhalten des Eigelbes oder der ganzen Eisubstanz verschiedener Tiere zu einem Hühnereigelb-Antiserum, sowie mit dem serologischen Nachweis von Eigelb in Nahrungsmitteln beschäftigten.

Von Uhlenhuth und Ottolenghi, Galli-Valerio und Bolland, sowie Emmerich wurde das Eigelb verschiedener Tierarten gegenüber hochwertigem Hühnereigelb-Antiserum untersucht, und sämtliche Autoren stellten fest, daß den Hühnern nahestehende Vogelarten mit Hühnereigelb-Antiserum eine deutliche, wenn auch abgeschwächte Präzipitation gaben. Außerdem wurde von den oben Genannten, sowie Schütze die Möglichkeit des Nachweises von Eigelb in Nahrungsmitteln außer Zweifel gestellt, wobei jedoch besonders Emmerich darauf hinwies, daß ein negatives Resultat bei der Nahrungsmitteluntersuchung sehr wohl durch die Bereitungsart des betreffenden Präparates bedingt sein könnte und deshalb nur beschränkte oder gar keine Schlüsse auf die Verwendung von Eigelb bei der Herstellung der Präparate zuläßt.

Zu der Frage, welche bei der Herstellung in Betracht kommenden Vorgänge und die Elimination welcher Bestandteile dem Eigelb seine für das Zustandekommen der Präzipitinreaktion erforderlichen Eigenschaften nehmen, soll die vorliegende Arbeit, die auf Veranlassung von Herrn Dr. Emmerich vorgenommen wurde, einen Beitrag liefern.

Im wesentlichen jedoch sollen die Resultate der biologischen Prüfung des Eigelbs von Tieren, vor allem Vögeln,

mitgeteilt werden, die bisher zum größten Teil noch nicht nach der Präzipitationsmethode untersucht wurden. Und ferner soll untersucht werden, ob der Ausfall der Reaktion namentlich mit Rücksicht auf die Antigenverdünnungen, in denen noch eine positive Reaktion auftritt, in Einklang zu bringen ist mit der gebräuchlichen Einteilung der Vogelarten. Zum Vergleich herangezogen wurden zur Bewertung dieser Befunde die Resultate, die Nuttall vom gleichen Gedanken ausgehend dadurch erhielt, daß er Hühnerblutantisera mit dem Blut einer sehr großen Reihe von Vögeln präzipitieren ließ.

Die Beschaffung eines einigermaßen ausreichenden Materials war sehr schwierig und nur durch die Güte der Direktion des Zoologischen Gartens zu Frankfurt a. M. und der Zoologischen Gesellschaft in Hamburg möglich, denen ich hier nochmals meinen ergebensten Dank ausspreche.

Herstellung des Serums: Alle 5—6 Tage wurden jedem von 3 Kaninchen 2 ccm einer Hühnereigelb-Aufschwemmung 1:50 in physiologischer NaCl-Lösung in die Ohrvene injiziert. Aus technischen Gründen wurden 2mal 4 ccm intraperitoneal gegeben.

Ein Serum reagierte nach der vierten Injektion mit Hühnereigelb in Verdünnung 1:20 000 positiv, worauf das Tier entblutet wurde. Die beiden anderen erst nach der fünften Injektion mit einer Verdünnung von 1:10 000 bzw. 1:20 000. Das Serum wurde mit dem Uhlenhuthschen Filtrierapparat filtriert und in sterile Glasröhrchen eingeschmolzen im Eisschrank aufbewahrt.

Die Antisera behielten, wie die Kontrollen ergaben, 2 Monate ihre Wirksamkeit fast unverändert bei, erst dann zeigte sich eine geringe Abschwächung.

Ferner wurde bei jeder Untersuchung festgestellt, daß der betreffende Extrakt oder das betreffende Eigelb mit normalem Kaninchenserum und das verwendete Antiserum mit physiologischer Kochsalzlösung keine Reaktion gab. Die einzelne Reaktion wurde in der gebräuchlichen Weise so ausgeführt, daß 0,9 ccm der Eigelbverdünnung mit 0,1 ccm Antiserum unterschichtet wurde.

Verwertet wurden nur solche Befunde, die spätestens 15 Minuten nach Anstellung der Reaktion erfolgten. Zunächst soll hier eine Tabelle folgen, welche die Resultate der Präzipitinreaktion zwischen dem Eigelb verschiedener Vogelarten und Hühnereigelb-Antiserum enthält.

I.	II.	III.	IV.					V.
Ord- nung	Familie	Name	Verdünnungen des Eigelbs					Bemer- kungen
			1 : 1000	1 : 2000	1 : 5000	1 : 10 000	1 : 20 000	
Pici	Picidae	1. Gattung nicht be- kannt	s	s	s' sch	8' Sp	0	N I : sch
		Gallus domesticus	s	s	s	1'	5' Sp	
Passeres	Fringil- idae	2. Serinus canarius, Kanarienvogel	1'	1' sch	0	0	0	
		G. d.	s	s	s	10' Sp	0	
		3. Passer domesticus, Sperling	s	s	5'	12' sch	0	N I : sch
		G. d.	s	s	s	s	2' sch	
		4. Fringilla coelebs, Buchfink	5'	5'	0	0	0	Wenig Ei- gelb, Em- bryo (1,05 g)
		G. d.	s	s	1'	4' sch	6' sch	
		5. Emberiza hortu- lana, Gartenammer	1'	1'	1'	2' sch	0	
		G. d.	s	s	s	1/2'	3'	
	Alaudi- dae	6. Galerita cristata, Haubenlerche	5' sch	5' sch	7' Sp	9' Sp	0	
		G. d.	s	s	s	1/2'	3'	
	Sylvii- dae	7. Sylvia cinerea, Dorngrasmücke	3' sch	0	0	0	0	
		G. d.	s	s	s. sch	5' sch	0	
	Turdi- dae	8. Turdus musicus, Drossel	1'	1'	3' sch	0	0	N I : 0—sch deutl.
		G. d.	s	s	s	s	2' sch	N II : mittl.
		9. Turdus merula, Amsel	s	s	3' sch	0	0	Wenig Ei- gelb, Em- bryo
		G. d.	s	s	s	s	2' sch	
		10. Turdus merula, Amsel	s	s	1' Sp	0	0	N I : sch, deutl.
		G. d.	s	s	s	s	2' sch	N II : deutl.
	Paridae	11. Panurus biarmi- cus, Bartmeise	3' sch	3' sch	5' Sp	8' Sp	0	
		G. d.	s	s	s	1/2'	s	
	Sturni- dae	12. Sturnus vulgaris, Star	3' sch	3' sch	4' sch	0	0	N I : 0
		G. d.	s	s	s	1/2'	3'	
	Corvi- dae	13. Corvus frugilegus, Saatkrähe	s. sch	s. sch	?	10' sch	0	N I : 0
		G. d.	s	s	s	s	2' sch	
Rapta- cores	Vulturi- dae	14. Vultur monachus, Mönchsgeier	s	s	2'	6' Sp	0	N I : deutl.
		G. d.	s	s	s	1/2'	3'	
	Falconi- dae	15. Ibycter Chi- nango	s	s	4' sch	4' sch	0	
		G. d.	s	s	s. Sp.	2' Sp	8' Sp	

I. Ord- nung	II. Familie	III. Name	IV. Verdünnungen des Eigelbs					V. Bemer- kungen
			1 : 1000	1 : 2000	1 : 5000	1 : 10 000	1 : 20 000	
Rapta- cores	Falconi- dae	16. <i>Astur palumbarius</i> , Habicht G. d.	2' beg. 4' s	2' beg. 4' s	3' beg. 4' 1'	10' sch 4' sch	0 6' sch	Wenig Ei- gelb, Em- bryo, N I: sch
		17. <i>Falco subbutea</i> , Lerchenfalke G. d.	1' s	1' s	3' sch s	6' Sp s. sch	0 6' sch	
Colum- binae	Colum- bidae	18. <i>Columba livia</i> , domest., Taube G. d.	s s	s s	s s	5' Sp 1'	10' Sp 5' Sp	N I: 0—sch Eigelb m. et- was Eiklar verm.
		19. <i>Columba livia cu- cullata</i> , Perücken- taube G. d.	s. sch. s	2' s	3' s	0 1'	0 5' Sp	
Gallina- cei	Tetrao- nidae	20. <i>Caccabis rufa</i> , Rothuhn G. d.	s s	1' s	1' s	1' sch 1/2'	0 3'	N I: sch N II: deutl.
		21. <i>Phasianus colchi- cus</i> , Gem. Fasan G. d.	s s	2' s	5' s	12' s. sch	0 5' Sp	
	Phasia- nidae	22. <i>Phasianus mon- golicus</i> , Mongol- fasan G. d.	s s	s s	1' s	6' 1/2'	0 3'	N II: stark
		23. <i>Gallophasis nyc- theremus</i> , Silber- fasan G. d.	s s	s s	s s	2' 1'	7' 5'	
	Craci- dae	24. <i>Pavo cristatus</i> , Pfau G. d.	s s	s s	1' sch s	3' sch s. sch	0 6' sch	N I: stark
		25. <i>Meleagris gallo- pavo</i> , Pute G. d.	s s	s s	s s	0 s. sch	0 5' Sp	
Grallae	Chara- driidae	26. <i>Vanellus crista- tus</i> , Kiebitz G. d.	s s	s s	s s	s. sch 1'	3' 5' Sp	
		27. <i>Cygnus atratus</i> , schwarzer Schwan G. d.	s s	s s	s s	2' 1'	2' 5' Sp	
Lamelli- rostris	Cygni- dae	28. <i>Anser domesticus</i> , Hausgans G. d.	s s	s s	s. sch s	2' 1'	0 5' Sp	
			s	s	s	1'	5' Sp	

I.	II.	III.	IV.					V.	
Ord- nung	Familie	Name	Verdünnungen des Eigelbs					Bemer- kungen	
			1 : 1000	1 : 2000	1 : 5000	1 : 10 000	1 : 20 000		
Lamelli- rostr	Anseri- dae	29. Anser anser L. (var. dom.), Tou- louser Gans	s	s	s. sch	2'	0	Wenig Ei- gelb, Em- bryo Mit Eiklar verm.	
		G. d.	s	s	s	1'	5' Sp		
		30. Brauta canadensis, Trompetengans	2'	2'	2'	2'	6'		
		G. d.	s	s	s	s. sch	6' sch		
	Anati- dae	31. Anas domestica, Hausente	s	s	s. sch	0	0		
		G. d.	s	s	s	s. sch	5' Sp		
		32. Anas boscas L. (var. dom.), Peking- ente	1'	2'	2'	4' sch	5' Sp		
		G. d.	s	s	s	s. sch	6' sch		
	Longi- pennes	Laridae	33. Larus (genaue An- gabe nicht mög- lich), Möve	s. sch	s. sch	0	0		0
			G. d.	s	s	s	s. sch		6' sch

Erklärung der Tabelle: Rubrik I enthält die Namen der Ordnungen, II die Namen der Familien, III die Namen der Vögel, IV die Resultate der Reaktionen, wobei folgende Abkürzungen verwendet wurden:

s = die Reaktion trat sofort deutlich auf; 2' = die Reaktion trat nach 2 Minuten deutlich auf; sch = die Reaktion trat schwach auf; Sp = es trat nur eine Spur auf; 0 = keine Reaktion.

Jeder einzelnen Reaktion ist als Vergleich gegenübergestellt die Reaktion, welche das verwendete Antiserum mit der gleichen Verdünnung von Hühnereigelb ergab.

Rubrik V enthält 1. Bemerkungen über besondere Beschaffenheit des vorliegenden Eies oder über Versuchsfehler; 2. zum Vergleich die Resultate, welche Nuttall bei einigen der hier bearbeiteten Vogelarten zwischen deren Blutserum und Hühnerblutantisera (N I) oder zwischen deren Eiklar und Hühnereiklarantisera (N II) erhielt. N: 0—sch heißt: die Resultate mehrerer Versuche von Nuttall waren teils negativ, teils schwach positiv.

Bei der Betrachtung der Tabelle daraufhin, bis zu welcher Verdünnung die einzelnen Eigelbarten innerhalb der gleichen Familie mit dem Antiserum reagieren, ergibt sich bei verschiedenen Familien ein beträchtlicher Unterschied.

Während die beiden Vertreter der Familie Turdidae (No. 8 und 10) bis zur Verdünnung 1:5000, und die Falconidae (No. 15—17) bis zu 1:10 000 reagieren, zeigen sich innerhalb der Familien Fringillidae, Columbidae, Phasianidae, Anseridae und Anatidae zum Teil sehr starke Unterschiede.

Auffallend ist die Differenz zwischen zwei im System sich so nahestehenden Eigelbarten wie No. 18 und 19, die auf keinen Fall auf dem geringen Versuchsfehler bei No. 19 beruhen kann, ebenso zwischen No. 31 und 32.

Seltsam ist, daß von den 4 dem Gallus domesticus sehr nahestehenden Phasianidae No. 21—24 3 nur bis 1:10 000 reagieren, während verschiedene Angehörige sogar anderer Ordnungen, z. B. No. 18, 26, 27, 30, 32, eine Reaktion bis 1:20 000 ergeben.

Bei der geringen Zahl der untersuchten Arten ist wohl anzunehmen, daß bei weiterer Ausdehnung der Untersuchungen sich auch bei den Turdidae und Falconidae Unterschiede zeigen würden. Einzig wäre wohl hervorzuheben, daß die Gattungen der eigenen Ordnung (Gallinaeei) alle mit Ausnahme von No. 25 bis 1:10 000 reagierten.

In der Geschwindigkeit, mit welcher die Reaktion auftritt, sind Unterschiede von 1 Minute nicht zu verwerten, da das Serum sich unten im Glase verschieden schnell deutlich absetzt.

Auch wenn man nur die größeren Zeitunterschiede berücksichtigt, wobei natürlich die einzelnen Versuche nur mit Berücksichtigung der Reaktionsgeschwindigkeit des verwendeten Serums gegenüber Hühnereigelb untereinander verglichen werden dürfen, scheint sich keine Gesetzmäßigkeit im Verhalten der nächstverwandten Gattungen oder Familien im Vergleich zu fernstehenden zu ergeben.

Zum Vergleich mit den Resultaten, welche Nuttall bei Anstellung von Präzipitationsreaktion zwischen Blutserum und Hühnerblutantisera erhielt (N I in Rubrik V) zeigt sich, daß bei No. 1, 3, 12, 13, 16, 18, 21, 25 keine Uebereinstimmung besteht, und zwar sind die Nuttallschen Versuche außer bei No. 25 durchweg schwächer ausgefallen. Besonders auffallend ist der Unterschied bei No. 13 und 18.

Bei No. 8, 9, 14, 23 läßt sich eine gewisse Uebereinstimmung erkennen, während bei No. 25 das Serum wesentlich stärker reagiert.

Mit den Reaktionen zwischen Eiklar der einzelnen Vogelarten und Hühnereiklarantiserum (N II) stimmen die Resultate in Rubrik IV bei No. 8, 21, 23 gut überein im Gegensatz zu No. 10.

Ob sich bei Bewertung der Stärke des Ausfalls jeder einzelnen Reaktion irgendwelche Gesetzmäßigkeit zeigen würde, läßt sich mangels einer genauen Methode zur quantitativen Beurteilung nicht sagen.

Wenn sich auch nach dem bis jetzt Erwähnten im Ausfall der Reaktion keine Gesetzmäßigkeit ergeben hat, die Schlüsse zuließe auf die Stellung der einzelnen Vogelarten im System oder auf die verwandtschaftlichen Beziehungen der einzelnen Vogelarten zueinander, so hat sich doch immerhin gezeigt, daß wir bei sämtlichen untersuchten Arten eine zwar verschieden starke, aber immer positive Reaktion erhielten, die uns beweist, daß das Eigelb der verschiedenen Vögel sich größtenteils aus den gleichen Komponenten aufbaut.

Ganz offenbar wird darnach das Präzipitinogen gebildet von einem allen Eigelbarten gemeinsamen prinzipiell gleichartigen Komplex, dessen Größe und Zusammensetzung uns bis jetzt unbekannt ist, und es drängte sich deshalb die Frage auf, ob dieser Komplex von den gesamten Bestandteilen des Eigelbs gebildet wird, oder ob es gelingt, durch Trennung den wirksamen Komplex zu isolieren.

Bevor wir versuchten, einen Beitrag zur Lösung dieses Problems zu liefern, wurde jedoch noch eine andere Frage näher berührt, nämlich die, ob die während der Bebrütung sich im Eigelb vollziehenden chemischen qualitativen und quantitativen Veränderungen einen Einfluß auf die biologische Reaktionsfähigkeit des Eigelbs gegenüber einem spezifischen Antiserum haben. Nach Levene treten während der Bebrütung im Eigelb Monoaminosäuren auf, während sich nach Tichomiroff die ursprünglich vorhandenen Bestandteile prozentual derartig ändern, daß die unlöslichen Eiweißkörper, Glykogen, Fett und Cholesterin abnehmen, dagegen Lecithin und stickstoffreiche Basen zunehmen.

Also das Auftreten eines neuen Bestandteiles und eine prozentuale Verschiebung der vorhandenen. No. 9 und 10 zeigen einen Vergleich der Reaktion des Eigelbs eines Eies, in welchem neben Eigelb ein Embryo vorhanden war, und eines solchen in einem früheren Bebrütungsstadium. Während die Reaktion bei den Verdünnungen 1:1000 und 1:2000 sofort auftrat, begann sie bei 1:5000 in No. 9 2 Minuten später, Doch berechtigt dieser Befund kaum zu irgendwelchen Schlüssen.

Ein weiterer Versuch in dieser Richtung zum Vergleich der Reaktion des Dotters eines frisch gelegten Hühnereis und der eines 9 Tage bebrüteten Hühnereis, in welchem schon ein Embryo vorhanden war, hatte folgendes Resultat:

	1:1000	1:2000	1:5000	1:10 000	1:20 000
Bebrütetes Ei	s	1' Sp	4' sch	6' sch	4' sch
Frisches Ei	s	1' sch	4' sch	6' sch	6' Sp

Dieses Ergebnis läßt sich mit dem obigen nicht recht in Einklang bringen.

Sobald aber das Eigelb die beim Aufbau des Embryos eintretende Differenzierung durchgemacht hat, gibt auch die Gesamtheit der differenzierten Stoffe keine Reaktion mehr mit dem Antiserum. Ein Extrakt aus Embryonen von No. 3, 4, 9, 16, 30 mit physiologischer NaCl-Lösung ergab keine Reaktion.

Einmal konnte auch das Serum eines Embryos (No. 30) zu einem Versuch herangezogen werden. Die Präzipitation fiel vollständig negativ aus. Dieses Resultat stimmt überein mit den früheren Uhlenhuthschen Versuchen, der mit Blut von jüngeren Hühnern keine Präzipitation bekam, während das Serum des ausgewachsenen Huhnes positiv reagierte. Diese Befunde weisen darauf hin, daß junge Tiere, sowohl Embryonen wie ausgetragene, keine präzipitierenden Eigelbbestandteile in ihrem Blut haben und daß erst mit der Zeit der Geschlechtsreife Eigelbbestandteile (Ovar) im strömenden Blute kreisen. Mit Hinsicht auf die neueren Arbeiten Abderhaldens gewinnen diese Fragen an Interesse. Doch würden weitere Versuche auf diesem Gebiete in größerer Zahl vielleicht zur Klärung dieser interessanten Frage beitragen.

Zum Studium der Frage, ob nur das ganze Eigelb imstande ist, eine Präzipitinreaktion mit dem Eigelbantisera zu geben, ob also sämtliche Bestandteile sich an der Anregung der Produktion spezifischer Antikörper beteiligen, oder ob diese Fähigkeit an Gruppen teilweise chemisch nahe verwandter Körper von ähnlichen physikalischen Eigenschaften gebunden ist, wurden zunächst Aether- und Alkoholextrakte hergestellt.

Zur Gewinnung des Aetherextraktes wurde der Dotter eines Hühner-
eies erst 2 Stunden mit der 5-fachen Menge Aether in der Schüttelmaschine bei Zimmertemperatur ausgeschüttelt, dann der Aether abgesaugt und der Rest weitere 10 Stunden mit etwa der 10-fachen Menge Aether geschüttelt.

Der Alkoholextrakt wurde durch 3-stündiges Schütteln mit 96-proz. kalten Alkohol hergestellt.

Die Extrakte wurden bei 38° im Vakuum eingedampft und die Rückstände mit physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt zum Versuch verwendet. Nach Gobley sind die Bestandteile des Hühnereigelbs folgende:

	%	Löslichkeit	
		in Aether	in Alkohol
Wasser	51,8		
Vitellin	15,8	unlöslich	unlöslich
Nuklein	1,5	unlöslich	unlöslich
Palmitin	.	leicht	kaum
Stearin	20,3	löslich	sehr wenig
Olein	.	leicht	sehr wenig
Cholesterin	0,4	leicht	wenig
Glycerin- Phosphorsäure }	1,2	(Zersetzungsprodukt von Phosphatiden, Bang)	
Lecithin	7,2	leicht	leicht
Cerebrin	0,3	unlöslich	unlöslich
Farbstoffe	0,5	teilweise löslich	teilweise löslich
Galle (?)	1,0	teilweise	teilweise

Folglich wären im Aetherextrakt Lecithin, Palmitin, Stearin, Olein, Cholesterin, Farbstoffe, einzelne Gallenbestandteile (z. B. Cholesterin, Lecithin, Fett), im Rückstand Vitellin, Nuklein, Cerebrin, einzelne Gallenbestandteile (vor allem Mucin).

Der Alkoholextrakt enthält vor allem Lecithin, Spuren von Palmitin, Stearin, Olein, etwas Cholesterin und Gallenbestandteile (z. B. Cholesterin, Lecithin, Biliverdin). Der Rückstand besteht aus Vitellin, Nuklein, Palmitin, Stearin

Olein, Cholesterin, Cerebrin, Gallenbestandteilen (vornehmlich Mucin, Bilirubin).

In beiden Fällen muß ein Teil des Lecithins zurückgeblieben sein, da Vitellin wahrscheinlich in Bindung mit Lecithin vorhanden ist (Vitellin ist wahrscheinlich überhaupt ein Gemisch von verschiedenen Lecithinverbindungen) und diese Bindung durch Bearbeitung mit kaltem Alkohol nicht getrennt wird.

Ferner ist in der obigen Analyse von Gobleby nicht angegeben, woher das Nuklein stammt, welches, soweit ich sehen kann, nur als Spaltungsprodukt von Nukleoproteiden vorkommt.

Auch das Erwähnen der Galle in der chemischen Analyse dürfte nur als Sammelbegriff zu verwerthen sein.

Die Rückstände des ausgeschüttelten Eigelbs und die Rückstände der abgedampften Extrakte wurden mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt und je 0,9 ccm davon mit 0,1 ccm Antiserum unterschichtet. Keine der 4 Proben ergab eine Präzipitation, was namentlich für den Rückstand bei Alkoholextraktion verständlich ist, wenn man die intensive Einwirkung des Alkohols auf die Eiweißkörper bedenkt. Es muß jedoch bemerkt werden, daß die stärkste Konzentration der Aufschwemmungen, mit welcher die Reaktion angestellt wurde, 1:1000 war, da bei stärkerer Konzentration die Aufschwemmung zu trübe war, um eine Reaktion erkennen zu lassen.

Es scheint, als ob jedoch ein recht großer Teil der in Aether löslichen Bestandteile im Eigelb fehlen können, ohne dem Eigelb seine Reaktionsfähigkeit zu nehmen. Denn Eigelb, welches nur 3 Stunden mit Aether ausgeschüttelt war, was zweifellos die Lösung eines beträchtlichen Teiles der löslichen Bestandteile zur Folge hatte, zeigte noch deutliche Reaktion:

	1:1000	1:2000	1:5000	1:10 000
Eigelb (3 Std. ausgeschüttelt)	2'	2'	5' Sp	0
Frisches Eigelb	s	s	1'	4' sch

Die Frage nach der praktischen Verwertbarkeit des Hühner-eigelb-Antiserums zur Prüfung von Nahrungsmitteln oder sonst

von industriellen Produkten wurde noch in einigen Versuchen geprüft, und zwar wurde zunächst Ray-Seife untersucht, welche nach Angabe der Fabrik 25 Proz. Hühnereisubstanz, „Eiweiß und Dotter“, enthält.

Die Seife wurde in physiologischer NaCl-Lösung gelöst und ergab in einer Verdünnung, welche einer Eigelblösung von 1:48 000 entsprach — angenommen, daß Eigelb und Eiklar im gleichen Verhältnis in der Seife vorhanden sind wie im Ei — eine sofort beginnende, nach 1 Minute deutliche Präzipitation, da aber das Serum, welches bei der Reaktion zur Verwendung kam, mit Hühnereigelbaufschwemmung in Verdünnung 1:10 000 keine Präzipitinreaktion gab, wurden Kontrollen ausgeführt, deren Resultate folgende waren:

Ray-Seife = Eigelbaufschwemmung 1:48 000	
+ Normalkaninchenserum	sofort starke Präzipitation
Garantiert reine Handseife (Seifenfabrik Klar, Heidelberg) + Antiserum	sofort deutl. Präzipitation
Dieselbe + Normalkaninchenserum	dgl.
Braune Schmierseife 1:1000 + Antiserum	dgl.
1:5000 + Antiserum	keine Präzipitation
1:2000 + Normalserum	dgl.
Weißer Schmierseife 1:1000 + Antiserum	sofort deutl. Präzipitation
1:5000 + Antiserum	keine Präzipitation
1:2000 + Normalserum	nach 2' deutlicher Ring
	etwas oberhalb der Berührungsstelle von Serum und Seifenlösung
1:5000 + Normalserum	keine Reaktion

Wir ersehen daraus, daß verschiedene Seifen auch mit Normalserum eine präzipitationsähnliche Reaktion geben, eine Bestätigung früher bereits von anderer Seite veröffentlichter Befunde.

Auch für die Prüfung von Nahrungsmitteln, insbesondere Backwaren, ist die Reaktion, wie oben erwähnt, nur beschränkt verwertbar, da, um nur einige Beispiele herauszugreifen, sowohl ein viertelstündiges Erwärmen im Wasserbad auf 100° C als auch ein 22-stündiger Aufenthalt im Brutschrank von 56° einer frischen Hühnereigelbaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung (1:100) die Fähigkeit, mit dem Antiserum zu reagieren, vollkommen nahm.

Zum Schluß sei noch erwähnt, daß Ei und Embryoextrakt von Würfelnatter sowie mehreren Fischarten (*Esox lucius* — Flußhecht, *Salmo salar* — Salm, *Lucioperca sandra* — Zander, *Solea vulgaris* — Seezunge, *Clupea alosa* — Mai-

fisch, Rot-Soles) vollständig negative Reaktion ergaben. Doch hat bereits Emmerich bei verschiedenen anderen untersuchten Fischeiern, sowie bei Schildkröteneiern positive Präzipitation bekommen. Es bedarf also weiterer Versuche auf breiterer Basis, um die vorerst sich noch widersprechenden Befunde zu erklären.

Zusammenfassung.

1) Der Ausfall der Präzipitinreaktion mit Hühnereigelb-Antiserum bei verschiedenen Vogelarten zeigt keine Uebereinstimmung mit der Einteilung im System.

2) Im Hühnerei nimmt die Fähigkeit des Eigelbs, mit dem spezifischen Antikörper zu reagieren, mit der Bebrütungszeit nicht ab.

3) Embryoextrakte sowie Blutserum eines Embryo geben keine Reaktion.

4) Nach Ausschüttelung von Eigelb mit Alkohol und Aether geben weder die Rückstände noch die extrahierten Stoffe eine Reaktion. Das Eigelb verliert mit fortschreitender Aetherextraktion allmählich seine biologischen Eigenschaften gegenüber spezifischem Antiserum.

5) Erhitzen von Eigelb hebt die Präzipitation auf.

6) Mehrere Arten von Fischeiern und ein Schlangenei, sowie ein Schlangenembryo geben negative Reaktion.

Literatur.

- Abderhalden, Biochemisches Handlexikon.
— Biochemische Arbeitsmethoden.
Emmerich, Untersuchungen mit Eigelbantisera, zugleich ein Beitrag zu den Beziehungen der verschiedenen Eigelbarten zueinander. Zeitschr. f. Immunitätsf., 1913.
Galli-Valerio et Bornand, Sur quelques applications des lacto- et ovosera. Zeitschr. f. Immunitätsf., 1912.
Leunis, Synopsis der drei Naturreiche.
Nuttall, Bloodimmunity and Bloodrelationship.
Oppenheimer, Handb. d. Biochem. (zit. Levene, Gobley, Tichomiroff).
Schütze, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 47, 1904.
Uhlenhuth und Weidanz, Praktische Anleitung zur Ausführung des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens (zit. Ottolenghi).
-

Lebenslauf.

Am 1. Juli 1888 bin ich zu Heidelberg geboren als Sohn des Professors Dr. Alfred Seng. Ich bin Badener.

Von 1898—1907 besuchte ich das humanistische Gymnasium zu Heidelberg und studierte nach bestandener Reifeprüfung 2 Semester Rechtswissenschaft in Heidelberg.

Darauf ging ich zum medizinischen Studium über und verbrachte davon 8 Semester in Heidelberg, 1 Semester in Freiburg i. B. und 1 Semester in Berlin.

Die Vorprüfung bestand ich Frühjahr 1911, die Hauptprüfung Herbst 1913 in Heidelberg.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.
